

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
Beta-Catenin
 Clon β -Catenin-1
Ready-to-Use
 (Dako Autostainer/Autostainer Plus)

Nº de catálogo IS702

Uso previsto	Para uso en diagnóstico <i>in vitro</i>. FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Beta-Catenin, Clone β-catenin-1, Ready-to-Use (Dako Autostainer/Autostainer Plus), está indicado para su uso en inmunohistoquímica junto con los instrumentos Dako Autostainer/Autostainer Plus. Este anticuerpo resulta útil en la identificación de tumores desmoides (1) y cáncer colorrectal (2). Los anticuerpos para la β-catenina se pueden utilizar también para la identificación del adenoma de colon (3). La interpretación de los resultados de cualquier tinción o su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos con controles adecuados y debe evaluarla un anatomopatólogo cualificado en el contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas.
Resumen y explicación	Las cateninas son proteínas citoplasmáticas con estructuras similares a las que se ha clasificado como alfa (α), beta (β) y gamma (γ) en función de su movilidad electroforética (4, 5). El gen de la β-catenina se encuentra en el locus 3p21 y codifica una proteína de 88 kDa (4, 5). Esta proteína citoplasmática es polivalente y es imprescindible para el anclaje mediado por cadherina, así como para la organización del citoesqueleto (4). La β-catenina interviene asimismo en la regulación de la expresión del gen como mediador de la ruta de señalización del Wnt. Los niveles de β-catenina celular los regula de forma rigurosa un complejo multiproteico compuesto por serina/treonina quinasa GSK3β, el gen supresor de tumores APC y la axina, que facilita la fosforilación y la posterior degradación de la proteína β-catenina. La desregulación de la degradación de la β-catenina conduce a la acumulación citoplasmática de la proteína, seguido de la translocación al núcleo. La β-catenina nuclear forma complejos con proteínas de unión a ADN como por ejemplo TCF y LEF, activando la transcripción génica (6). Consulte las <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> de Dako o las instrucciones del sistema de detección de los procedimientos de IHQ para: 1) Principio del procedimiento, 2) Material necesario pero no suministrado, 3) Almacenamiento, 4) Preparación de la muestra, 5) Procedimiento de tinción, 6) Control de calidad, 7) Solución de problemas, 8) Interpretación de la tinción y 9) Limitaciones generales.
Reactivo suministrado	Anticuerpo monoclonal de ratón listo para usar suministrado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/L de azida de sodio. <u>Clon:</u> β-catenin-1. <u>Isotipo:</u> Ig G1, kappa.
Inmunógeno	Proteína de fusión β-catenina-GST C-terminal recombinante (7).
Especificidad	En la inmunotransferencia de Western de las células A431 del epitelio humano, el anticuerpo marca una banda correspondiente a la proteína β-catenina humana. No se observó reacción cruzada con la α-catenina ni la γ-catenina (7).
Precauciones	1. Para usuarios profesionales. 2. Este producto contiene azida de sodio (NaN₃), un compuesto químico altamente tóxico en su forma pura. Aunque a las concentraciones presentes en el producto no está clasificada como peligrosa, la azida de sodio puede reaccionar con cañerías de plomo y cobre formando acumulaciones de azidas metálicas altamente explosivas. Una vez desechado el producto, deje correr abundante cantidad de agua para evitar acumulaciones de azidas metálicas en las cañerías. 3. Al igual que con cualquier producto derivado de fuentes biológicas, deberán aplicarse los procedimientos adecuados de manejo. 4. Utilice el equipo de protección personal adecuado para evitar el contacto con los ojos y la piel. 5. La solución no utilizada debe desecharse con arreglo a las normativas locales, provinciales y nacionales.
Almacenamiento	Almacenar a 2–8 °C. No utilizar después de la fecha de caducidad impresa en el vial. Si los reactivos se almacenan en condiciones diferentes a las especificadas, el usuario debe comprobarlas. No existen signos evidentes que indiquen la inestabilidad de este producto. Por lo tanto, los controles positivo y negativo deberán realizarse de manera simultánea con las muestras del paciente. En caso de observarse una coloración inesperada que no pueda explicarse por las variaciones en los procedimientos del laboratorio y se sospeche de la existencia de un problema con un anticuerpo, contáctese con la Asistencia Técnica de Dako.
Preparación de las muestras incluido material necesario pero no suministrado	El anticuerpo puede utilizarse para marcar cortes de tejido fijados con formol e incluidos en parafina. Las muestras de tejido deben cortarse en secciones de aproximadamente 4 μm. Se requiere el tratamiento previo con recuperación del epítipo inducida por calor (HIER) usando Dako PT Link (nº de catálogo PT100/PT101). Para más detalles, consulte la Guía del usuario de PT Link. Se obtienen resultados óptimos al pretratar los tejidos con EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (nº de catálogo K8010/K8004).

Cortes incluidos en parafina: se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido fijados en formol e incluidos en parafina siguiendo el procedimiento de preparación de la muestra 3 en 1 para Dako PT Link. Siga el procedimiento previo al tratamiento explicado en el prospecto de la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (nº de catálogo K8010/K8004). Nota: Después de la tinción, se deben deshidratar, enjuagar y montar los cortes usando un medio de montaje permanente.

Cortes desparafinados: se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido desparafinados, fijados en formol e incluidos en parafina usando Dako PT Link y siguiendo el mismo procedimiento descrito para los cortes incluidos en parafina. Tras la tinción, los portaobjetos deben montarse utilizando un medio de montaje acuoso o permanente.

Los cortes de tejido no se deben secar durante el tratamiento ni durante el siguiente procedimiento de tinción inmunohistoquímica. Para una mejor adherencia de los cortes de tejidos a los portaobjetos, se recomienda el uso de FLEX IHC Microscope Slides (nº de catálogo K8020).

Procedimiento de tinción incluido material necesario pero no suministrado

El sistema de visualización recomendado es EnVision™ FLEX, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8010). Los pasos de tinción y los tiempos de incubación han sido preprogramados en el software de los instrumentos Dako Autostainer/Autostainer Plus usando los siguientes protocolos.

Plantilla del protocolo: FLEXRTU2 (volumen de aplicación 200 µL) o FLEXRTU3 (volumen de aplicación 300 µL)
Autoprograma: BETACAT (sin contratinción) o BETACATH (con contratinción)

El paso Auxiliar debe configurarse a "tampón de enjuague" en sesiones de tinción con ≤10 portaobjetos. En el caso de sesiones de tinción con > 10 portaobjetos, el paso Auxiliary debe configurarse a "none". De esta manera se aseguran tiempos de lavado semejantes.

Todos los pasos de incubación deben realizarse a temperatura ambiente. Consulte el Manual del usuario para más detalles sobre el instrumento correspondiente. Si todavía no están disponibles los protocolos en el instrumento Dako Autostainer utilizado, comuníquese con el servicio técnico de Dako.

Las condiciones óptimas pueden variar según la muestra y el método de preparación, y deberán determinarse individualmente en cada laboratorio. Si el patólogo encargado de la evaluación desea otra intensidad de tinción, se puede solicitar información a un especialista en aplicaciones de Dako o a un especialista del servicio técnico para reprogramar el protocolo. Verifique que el rendimiento del protocolo ajustado siga siendo válido confirmando que el patrón de tinción sea idéntico al descrito en "Características de resultados".

Se recomienda la contratinción en hematoxilina usando EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8018). Se recomienda un medio de montaje no acuoso permanente.

Los controles positivo y negativo deberán realizarse de manera simultánea empleando el mismo protocolo que para las muestras del paciente. El control positivo de tejido debe incluir colon e hígado, y las células/estructuras deben exhibir patrones de reacción como se describe para este tejido en "Características de resultados" en todas las muestras positivas. El reactivo de control negativo recomendado es FLEX Negative Control, Mouse (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo IS750).

Interpretación de la tinción

Las células marcadas con el anticuerpo muestran una tinción de membrana. Las células neoplásicas pueden mostrar tinción citoplasmática difusa y nuclear.

Características de resultados

Tejidos normales: en el colon, las células epiteliales muestran una reacción a la tinción de moderada a fuerte. En el hígado, los hepatocitos muestran una tinción de débil a moderada.

Tejidos anormales: el anticuerpo marcó 24/30 tumores desmoides esporádicos y 8/12 tumores desmoides en pacientes con poliposis adenomatosa familiar (1). En un estudio de micromatrices de tejidos acerca del cáncer colorrectal, 657/1310 mostraron una reacción de tinción nuclear, 1068/1310 citoplasmática y 1107/1310 de membrana (2). El anticuerpo marcó 1/1 adenomas de colon.

Referencias bibliográficas

- Carlson JW, Fletcher CDM. Immunohistochemistry for β -catenin in the differential diagnosis of spindle cell lesions: analysis of a series and review of the literature. *Histopathol* 2007;51:509-14.
- Lugli A, Zlobec I, Minoo P, Baker K, Tornillo L, Terracciano L, et al. Prognostic significance of the wnt signalling pathway molecules APC, β -catenin and E-cadherin in colorectal cancer-a tissue microarray-based analysis. *Histopathol.* 2007;50:453-64.
- Iwamoto M, Ahnen DJ, Franklin WA, Maltzman TH. Expression of β -catenin and full-length APC protein in normal and neoplastic colonic tissue. *Carcinogenesis* 2000;21:1935-40.
- Bracke ME, Van Roy FM, Mareel MM. The E-cadherin/catenin complex in invasion and metastasis. *Curr Top Microbiol Immunol* 1996; 213 (Pt 1):123-61.
- Ozawa M, Baribault H, Kemler R. The cytoplasmic domain of the cell adhesion molecule uvomorulin associates with three independent proteins structurally related in different species. *EMBO J* 1989;8:1711-7.
- Willert K, Nusse R. *Curr Opin Genet Dev* 1998;8:95-102.
- Antibody Certification. On file at DakoCytomation Corporation.

Explicación de los símbolos

	Referencia		Limitación de temperatura		Fecha de caducidad
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>		Contiene suficiente para <n> ensayos		Fabricante
	Consulte las instrucciones de uso		Código del lote		